Aus der Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik
Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. K.-H. Vosteen

Histologische und funktionelle Befunde am Innenohr des Meerschweinchens nach Applikation eines neuen Schleifendiuretikum

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Franz Leßmann

1981

1982

Aus der Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik
Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. K.-H. Vosteen

Histologische und funktionelle Befunde am Innenohr des Meerschweinchens nach Applikation eines neuen Schleifendiuretikum

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Franz Leßmann

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

„Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf"

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Arnold

Referent
gez.: Prof. Dr. Morgenstern

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Arnold

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Methodik	3
III.	Ergebnisse	14
IV.	Diskussion	25
V.	Zusammenfassung	34
VI.	Literaturverzeichnis	36
VII.	Lebenslauf	41

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0134

I. Einleitung

In den letzten Jahren ist es möglich geworden, durch selektive Anwendung von Diuretika Einblick in die komplexen Ionentransportvorgänge der Niere zu gewinnen. Sie dienen dabei als Schlüsselsubstanzen, deren Wirkungsweise und Wirkort im Nephron wesentlich zur Klärung des renalen Elektrolyttransportes beigetragen haben. Analoges gilt für das Neuroepithel des Endolymphsystems, wobei die Wirkung der sog. "Schleifendiuretika" Furosemid und Etacrynsäure im cochleären Teil der Endolymphe sowohl morphologische wie funktionelle Veränderungen bewirken, die wesentlich zum Verständnis der normalen Funktion von Stria- und Bogengangsepithel beigetragen haben. Mit Ozolinon steht eine neue chemische Substanz zur Verfügung, die ähnlich wie Furosemid und Etacrynsäure im aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife wirkt, deren Angriffspunkt am Innenohr jedoch weitgehend unbekannt ist. Im Gegensatz zu Furosemid und Etacrynsäure besitzt Ozolinon zwei optische Isomere aufgrund eines asymmetrischen C-Atoms. Prinzipiell lassen sich an der Niere 3 Hauptwirkorte unterscheiden:

1. der aufsteigende Schenkel der Henle'schen Schleife. Hier wirken die potenten Diuretika Furosemid, Etacrynsäure und Ozolinon,
2. der frühe distale Tubulus als Hauptangriffspunkt der Thiazide,
3. der späte distale Tubulus und das Sammelrohr. Hier greifen hauptsächlich die Kaliumsparer Amilorid, Triamteren und Spironolacton an.

Im folgenden sollen nur die Schleifendiuretika Etacrynsäure, Furosemid und Ozolinon in ihrer Wirkung am Epithel der Henle'schen Schleife und am Epithel des Innenohres verglichen werden, wobei der d-Form des Ozolinon besondere Bedeutung zukommt. D-Ozolinon steigert die Nierendurchblutung, senkt die PAH-Sekretion und senkt die glomeruläre Filtrationsrate. Es hemmt nicht die Chloridrückresorption im aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife und wirkt nicht diuretisch. Vorherige Gabe von d-Ozolinon hebt die diuretische Wirkung von Etacrynsäure, Furosemid und l-Ozolinon auf.

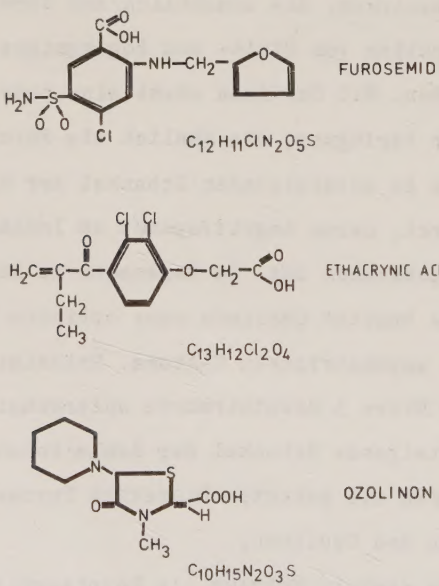


Abb. 1: Strukturformel der Schleifendiuretika Etacrynsäure, Furosemid und Ozolinon

II. Methodik

A. Lösung der Versuchssubstanzen

1. Ozolinon (Racemat)

Für diese Versuchsreihen verwendeten wir frischgelöste Reinsubstanz der organischen Säure Ozolinon (Racemat). Zu 500 mg Ozolinon (Racemat) wurden 1,95 ml einer 1,0 n NaOH gegeben und in der Regel auf 10 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Lösungsrückstände waren gering. Vor jeder Injektion wurde der pH-Wert der so angesetzten Lösung bestimmt. Dazu diente das pH-Meter der Firma Metrohm - E 388.
Meist stellte sich ein pH-Wert von ca. 9,0 ein. Zu stark alkalische Lösungen wurden verworfen. Als Kontrolle diente eine Lösung mit einem pH-Wert von 9,0.

2. D-Ozolinon

Auch für diese Versuchsreihen verwendeten wir ausschließlich frischgelöste Reinsubstanz der organischen Säure d-Ozolinon; um eine In-vitro-Racemisierung zu verhindern. Zu 500 mg d-Ozolinon wurden 1,95 ml einer 1,0 n NH_3-Lösung gegeben und auf 10 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Die Ammoniaklösung wurde ebenfalls stets frisch angesetzt.

B. Herstellung der Elektroden zur DC-Potentialmessung.

Zur Herstellung der Elektroden zur DC-Potentialmessung wurden Glaszylinder der Firma Hilgenberg verwendet. Ihr Außendurchmesser betrug 1,5 mm. Der Innendurchmesser war 0,89 mm. Sie wurden auf eine Länge von 10 cm geschnitten und mit Aqua dest. gereinigt. Nach mehrmaligem Spülen mit reinem Alkohol wurden sie bei 200°C zwei Stunden getrocknet. Mit einem Kapillarziehgerät der Firma Albrecht'Instrumente, Modell GA - 01286 - A/B, wurden sie auf einen Spitzendurchmesser von 0,5 um gezogen und mit einer 2,7 mol KCL-Lösung gefüllt. Der richtige Spitzendurchmesser und die vollständige Füllung der Spitze wurden unter dem Lichtmikroskop mit einer geeigneten Skala kontrolliert. Ein chlorierter Silberdraht wurde in die KCL-Lösung getaucht. Zur Messung wurden die Elektroden in einen Elektrodenhalter gespannt, der durch einen Mikromanipulator bewegt werden konnte.

C. DC-Potentialmessung

An zwei Gruppen farbiger Meerschweinchen wurde das endocochleäre Potential (DC-Potential = Ductus cochlearis - Potential) bestimmt.

Die erste Gruppe bestand aus 31 Tieren. Während der Messung wurde ihnen Ozolinon (Racemat) i.v. verabreicht und eine Dosis - Wirkungs - Kurve aufgestellt. Die zweite Gruppe bestand aus 10 Tieren. Ihnen wurde während der Messung d-Ozolinon i.v. verabreicht. Verwendet wurden männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht zwischen 220 g und 400 g. Es wurden nur Tiere mit einem positiven Preyer-Reflex verwendet. Als Narkotikum applizierten wir 6 ml/kg einer 25%igen Urethanlösung i.p. Alle Tiere wurden tracheotomiert und kanüliert. Die Spontanatmung blieb erhalten. Auf einer thermostatierten OP-Platte wurden die Tiere in Rückenlage fixiert. Mit einem elektrischen Thermometer der Firma Bailey, Modell BAT 8, wurde die Rektaltemperatur zur Kontrolle synchron mitgeschrieben. Nach Präparation und Katheterisierung einer Vena jugularis wurde an der contralateralen Seite die Bulla von ventral freigelegt und eröffnet und so die Cochlea dargestellt. Unter einem Auflichtmikroskop wurde mit einer feinen Nadel die knöcherne Wandung der dritten Windung über der Stria vascularis vorsichtig dargestellt und ein Loch mit einem Durchmesser von 40 - 50 um präpariert. Als Orientierung diente die mehr oder weniger starke Pig-

mentierung im Bereich der Stria vascularis bei farbigen Tieren, die durch die Wand durchscheint.
Die Glaselektrode wurde mittels eines Mikromanipulators durch die präparierte Wandung in den Endolymphraum vorgeschoben. Dabei wurde das Ligamentum spirale und die Stria vascularis passiert. Als Referenzelektrode diente ein chlorierter Silberdraht, der in einen Halsmuskel eingestochen wurde. Die Schaltung ist in Abb. 2 dargestellt. Alle Messungen dieser Reihe wurden mit einem Zweifachschreiber dokumentiert.

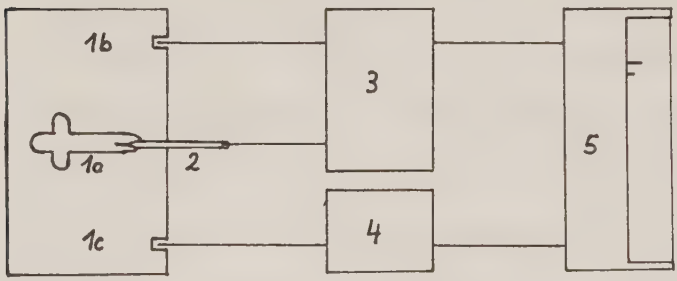


Abb. 2: Blockschaltbild zur DC-Potentialmessung

1. Tier
   a) Endolymphraum mit Elektrode
   b) Halsmuskel mit chloriertem Silberdraht
   c) Rektum mit Temperaturelektrode
2. Glaselektrode mit 2,7 mol KCL
3. Potentiometer der Firma Keithly
   Eingangswiderstand 10^{14} Ohm
   zur Bestimmung des DC-Potentials
4. Elektrisches Thermometer (Firma Baily, Modell BAT 8)
5. Kompensationsschreiber der Firma Rikadenki

Definitionsgemäß besteht das DC-Potential zwischen der Scala vestibuli und der Scala media. Da aber bei dem zuvor beschriebenen Zugang der Elektrode zur Scala media die Scala vestibuli nicht berührt wird, diente die an der Präparationsstelle austretende Flüssigkeit als Extrazellulärraum mit einem Potential von definitionsgemäß 0 mV. Die richtige Lage der Elektrodenspitze ergab sich nun aus der Potentialdifferenz zwischen dieser Flüssigkeit und dem Endolymphraum. Im Mittel ergab sich ein DC-Potential von 75,3 mV. Nachdem in der dritten Windung der Cochlea ein steady state im DC-Potential erreicht war, wurde Ozolinon (Racemat) bzw. d-Ozolinon i.v. appliziert. Der Lösungsvorgang und die pH-Bestimmung wurden oben näher beschrieben. Es wurde ausschließlich frischgelöste Substanz verwendet. Injektionsbeginn und Injektionsdauer wurden auf der Registrierung dokumentiert. Um einen Lösungsmitteleffekt auszuschließen, wurden 1,5 ml Ringerlösung mit verdünnter Natronlauge bzw. 1,0 n NH_3-Lösung auf einen pH von 9,0 titriert und als Bolus vorab appliziert. Das DC-Potential zeigte darauf keine meßbare Änderung (s.Abb.4). Damit war ein Effekt durch die Volumengabe wie auch durch die Basenbelastung ausgeschlossen.

Da die ototoxische Dosis für Ozolinon (Racemat) beim Meerschweinchen nicht bekannt war, wurde bei der ersten Gruppe von Tier zu Tier die Dosis erhöht, um eine Dosis-Wirkungskurve zu erhalten. Die maximale diuretische Wirkung wird mit 50 mg/kg an der Ratte angegeben (Greven et

al. 1978). Die von uns verabreichte niedrigste Dosis betrug 10 mg/kg, die höchste 1200 mg/kg. Die jeweils applizierten Dosen sind aus Tabelle 1 zu entnehmen. Kein Tier starb an einer Überdosis. Die Dauer der Messungen wurde hauptsächlich durch die Fixierung des Tieres bestimmt. In der Regel wurde die Lage der differenten Elektrode durch zu starke Atembewegungen des Tieres verändert. Am Ende jeder Registrierung wurde zur Kontrolle wieder das Potential des Extrazellulärraumes eingestellt, um eine eventuelle O-Punkt-Drift der Elektrode auszuschliessen.

Die Wirkung von Ozolinon (Racemat) auf das endocochleäre Potential ist charakteristisch und ließ sich sehr gut reproduzieren (siehe die Originalmessungen in Abb. 4 und 5). Zur Erstellung der Dosis-Wirkungs-Kurve wurde eine halblogarithmische Darstellung gewählt. Dem jeweiligen maximalen DC-Potential-Abfall auf der linearen mV-Achse wurde die dazu verabreichte Dosis auf der logarithmischen mg/kg-Achse zugeordnet (s. Abb. 6).

Den Tieren der zweiten Gruppe wurde d-Ozolinon in Dosen zwischen 500 und 1000 mg/kg i.v. verabreicht. Bei allen 10 Messungen wurde zur Kontrolle 30 - 40 min. post injektionem 50 mg/kg Etacrynsäure i.v. appliziert. Einen typischen Verlauf gibt die Abb. 7 wieder.

D. Kalium-Ionen-Konzentrationsmessung

Als Versuchstiere dienten wiederum farbige Meerschweinchen mit einem Körpergewicht zwischen 220 g und 340 g. Die K^+-Bestimmung erfolgte mit einer doppelläufigen Mikroelektrode. Sie wurde für jede Messung neu hergestellt. Ein Schenkel wurde mit einer 160 mval KCL-Lösung gefüllt und diente zur DC-Potentialmessung und als Referenzelektrode für die K^+-Messung. Der zweite Schenkel war mit einem K^+-selektiven Ionenaustauscher gefüllt und diente als differente Elektrode zur K^+-Bestimmung (zur Herstellung dieser Elektroden siehe Frömter et al.). Gemessen und registriert wurde die elektromotorische Kraft (EMK), die sich nach der Nernst'schen Gleichung als proportional zum natürlichen Logarithmus des Konzentrationsquotienten einstellt. Diese Versuchsanordnung entspricht dem Aufbau eines Konzentrationselementes für Kalium, für das gilt:

$$EMK = \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{K_x^+}{K_y^+}$$

R = Universelle Gaskonstante

T = absolute Temperatur

F = Faraday Konstante

Um die mathematische Berechnung der K^+-Konzentration zu umgehen und die damit verbundenen Fehlerquellen auszuschalten, wurde eine graphische Lösung vorgenommen. Dazu dienten sechs Vergleichslösungen mit bekann-

ter K^+-Konzentration, die mit NaCl isoton gehalten wurden und im Wasserbad auf 37,0 C^o erwärmt wurden. Ihre Konzentration wurde flammenspektrometrisch kontrolliert. Jeder Eichlösung wurde nun mit Hilfe der beschriebenen Meßvorrichtung eine Spannung zugeordnet und registriert. Es handelte sich um folgende Konzentrationen:

4 mVal	40 mVal
8 mVal	80 mVal
16 mVal	160 mVal

Für eine Zehnerpotenz Konzentrationsunterschied ergibt sich nach der Nernst'schen Gleichung:

$$EMK = \frac{R\ T}{F} \ln \frac{10}{1}$$

$$= \frac{8,13 \quad 310}{96500} \ 2,303 \lg 10 \qquad \frac{^oK \quad Ws}{C}$$

$$= 0,060 \qquad V$$

$$= 60 \qquad mV$$

Dieser theoretische Wert wurde mit keiner der Elektroden gemessen. Ein Teil der Spannung fällt offensichtlich schon in der Elektrodenspitze bzw. an der Grenzfläche der Flüssigkeiten ab und entzieht sich so der Messung. Dieser Spannungsanteil war allerdings von Elektrode zu Elektrode verschieden. Zur Messung wurden nur Elektroden verwendet, die direkt vor dem Versuch eine Potentialdifferenz von mehr als 50 mV pro Zehnerpotenz zeigten.

Die Konzentrationen der 6 Eichlösungen wurden dann auf einer logarithmischen Achse abgetragen und die gewonnenen Potentialdifferenzen auf einer linearen Achse diesen Werten zugeordnet. Die so erhaltene Eichkurve diente zur Bestimmung der K^+-Konzentration im endolymphatischen Raum.

Die Vorbereitung und Präparation der Tiere wurde wie bei der DC-Potentialmessung durchgeführt (s. Seite). Mit Hilfe des Mikromanipulators wurde der Endolymphraum mit der geeichten kaliumsensitiven Elektrode punktiert. Die richtige Lage der Elektrodenspitze ergab sich aus dem sich einstellenden Potential von ca. + 80 mV in der Endolymphe. Während der Messung wurden Diuretika i.v. appliziert, und zwar zunächst an zwei Tieren je 50 mg Etacrynsäure, um den Versuchsaufbau zu kontrollieren. Weiter erhielten:

zwei Tiere ca. 400 mg/kg Ozolinon (Racemat)i.v.
zwei Tiere 1000 mg/kg Ozolinon (Racemat)i.v.
fünf Tiere 1000 mg/kg d-Ozolinon i.v.

Nach den Messungen wurden die Kaliumionenkonzentrationen aus den gewonnenen Potentialkurven graphisch ermittelt.

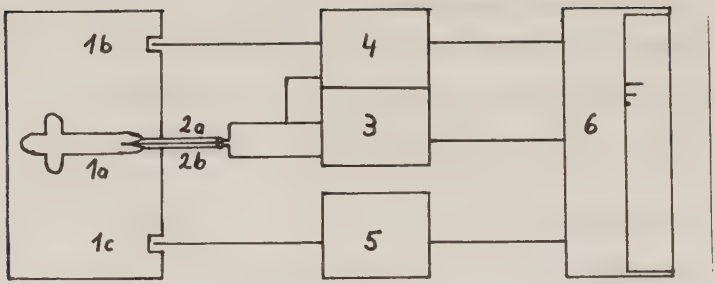


Abb. 3: Blockschaltbild zur K^+-Messung

1. Tier
   a) Endolymphraum mit doppelläufiger Mikroelektrode
   b) Halsmuskel mit chloriertem Silberdraht
   c) Rektum mit Temperaturelektrode
2. Doppelläufige Mikroelektrode mit
   a) 160 mval Kaliumchlorid
   b) Kaliumselektivem Jonenaustauscher
3. Differenzpotentiometer der Firma Keithley Instrument Mod. 604
   Eingangswiderstand: 10^{14} Ohm
   zur Bestimmung der Spannung, die sich proportional des Logarithmus der K^+-Konzentration einstellt
4. Potentiometer der Firma Keithley
   Eingangswiderstand: 10^{14} Ohm
   zur Bestimmung des DC-Potentials
5. Dreifachschreiber
   zur Simultanregistrierung von:
   Temperatur
   DC-Potential
   EMK_{K^+} (EMK_{K^+} = elektromotorische Kraft, die sich bei der gegebenen Tier-Temperatur zwischen den beiden Läufen der Doppelelektrode entsprechend der K^+ einstellt.)

E. Morphologische Untersuchungen

Als Versuchstiere wurden 16 männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 250 - 500 g benutzt. Sie erhielten eine Urethannarkose (6 ml/kg einer 25%igen Lösung) und einen Vena jugularis Katheter.

4 Tiere (Kontrollgruppe) erhielten 0,9%ige NaCl 1,5 ml
4 Tiere erhielten Ozolinon (Racemat) i.v. 600 mg/kg
4 Tiere erhielten Ozolinon (Racemat) i.v. 1000 mg/kg
4 Tiere erhielten Ozolinon (Racemat) i.v. 1500 mg/kg

Aus diesen Gruppen wurden je zwei Tiere nach 6 - 7 Minuten und zwei Tiere nach 60 Minuten mit einer 6,4%igen Glutaraldehyd-Lösung intracardial perfundiert und so fixiert. Anschließend wurden die Cochleen exstirpiert und bis zur Weiterverarbeitung in der gleichen Glutaraldehyd-Lösung aufbewahrt. Der pH-Wert dieser Fixierlösung wurde durch einen Phosphatpuffer auf etwa 7,4 gehalten. Die Weiterverarbeitung erfolgte in Osmiumtetraoxid und einer Alkoholreihe.
Es wurden licht-, rasterelektronen- und elektronenmikroskopische Präparate erstellt und vergleichend ausgewertet.

III. Ergebnisse

A. DC-Potential nach Ozolinon (Racemat)

Bei 31 farbigen Meerschweinchen wurde unter DC-Potentialmessung Ozolinon (Racemat) i.v. in Dosen zwischen 10 und 1200 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Die Ausgangspotentiale lagen zwischen + 47 und + 86 mV. Im Mittel ergab sich ein DC-Potential von + 75,3 mV. Die Applikation der Testsubstanz erfolgte, nachdem sich das DC-Potential mindestens 10 Minuten im steady state befand. Die Kontrollinjektion von 1,5 ml physiologischer Kochsalzlösung mit pH = 9 ergab über die Dauer von 10 Minuten keine Änderung des Potentials.
Nach der i.v. Applikation der frisch gelösten Testsubstanz Ozolinon (Racemat) stellte sich ohne Verzögerung ein DC-Potential-Abfall ein, der eindeutig dosisabhängig war. Eine signifikante Beeinflussung des DC-Potential ergab sich ab 50 mg/kg Körpergewicht mit einem Abfall von 3 mV. Den größten Abfall von 120 mV erhielten wir bei einer Dosis von 700 mg/kg Körpergewicht. Auch eine Dosissteigerung bis auf 1200 mg/kg Körpergewicht brachte keinen größeren Potentialabfall. Mit zunehmender Dosis zeigte die Erholungsphase einen protrahierten Verlauf. Der Kurvenverlauf der DC-Potentialmessung unter Ozolinon (Racemat) war charakteristisch und gut reproduzierbar. Zwei typische Verläufe sind in der Abb. 4 wiedergegeben.

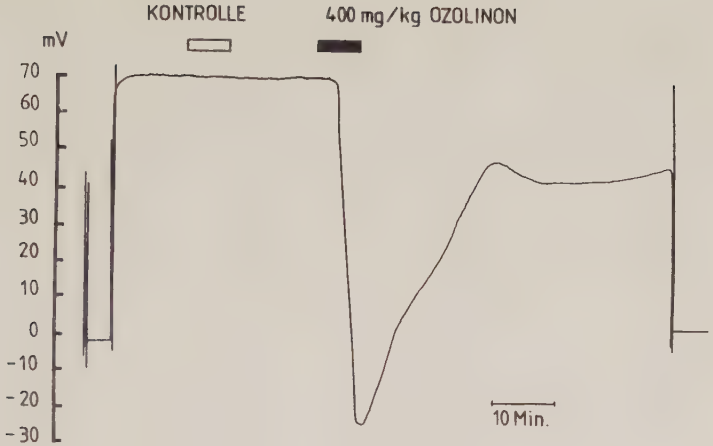


Abb. 4: DC-Potential in der dritten Windung unter 1,5 ml einer Kontrollösung mit pH = 9 und Ozolinongabe (Racemat) i.v. (400 mg/kg)

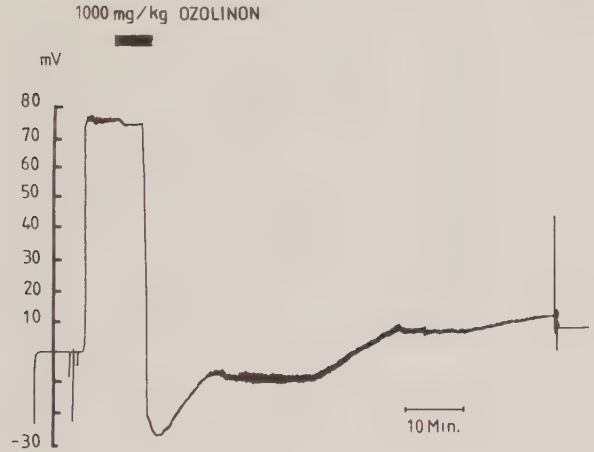


Abb. 5: DC-Potential in der dritten Windung unter Ozolinongabe (Racemat) i.v. (1000 mg/kg)

Nebeneffekte - insbesondere auf Kreislauf und Atmungssystem - wurden bei keinem Tier beobachtet. Alle gewonnenen Daten sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Beziehung zwischen der applizierten Dosis Ozolinon (Racemat) und dem maximalen DC-Potential-Abfall ist in der Abbildung 6 dargestellt.

Tier Nr.	Dosis mg/kg	DC-Potential mV	max. Abfall mV
1	10	72	0-2
2	10	85	0-2
3	50	75	3
4	80	86	4
5	98	77	5
6	110	78	6
7	200	55	14
8	230	84	23
9	284	78	15
10	300	85	73
11	300	71	22
12	300	70	27
13	300	79	73
14	300	70	72
15	367	89	49
16	400	47	50
17	400	73	37
18	400	76	14
19	400	78	24
20	400	74	96
21	400	74	48
22	420	75	83
23	483	78	66
24	600	69	90
25	700	83	120
26	700	84	69
27	1000	82	93
28	1000	72	92
29	1000	73	97
30	1200	84	117
31	1200	58	90

Tabelle 1. Max. DC-Potentialabfall nach Ozolinon (Racemat)

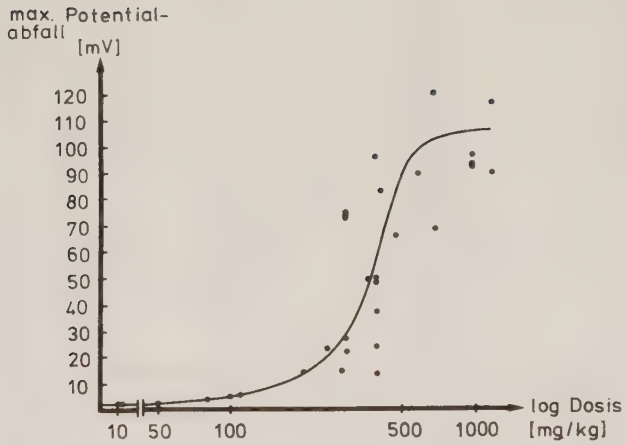


Abb. 6: Dosis-Wirkungsbeziehung Ozolinon (Racemat) - DC-Potential
Auf der Abszisse ist der dekadische Logarithmus der applizierten Dosis in mg/kg Körpergewicht abgetragen. Auf der Ordinate ist der maximale DC-Potentialabfall in mV abgetragen.

B. DC-Potential nach d-Ozolinon

Bei 10 farbigen Meerschweinchen wurde unter DC-Potentialmessung d-Ozolinon in Dosen zwischen 500 und 1000 mg/kg verabreicht. Es ergab sich in diesem Dosisbereich keine signifikante Änderung des DC-Potentials. Die Atmung wurde unter der Injektion stark beeinflußt, so daß Artefakte die Registrierung überlagerten (wahrscheinlich toxische Eigenschaft des NH_3, das zur Lösung verwendet wurde). 30 - 40 Minuten nach der Injektion wurde 50 mg/kg Etacrynsäure verabreicht. Alle Messungen zeigten darauf einen typischen DC-Potentialabfall bis max. auf - 40 mV. Eine Originalmessung gibt die Abb. 7 wieder.

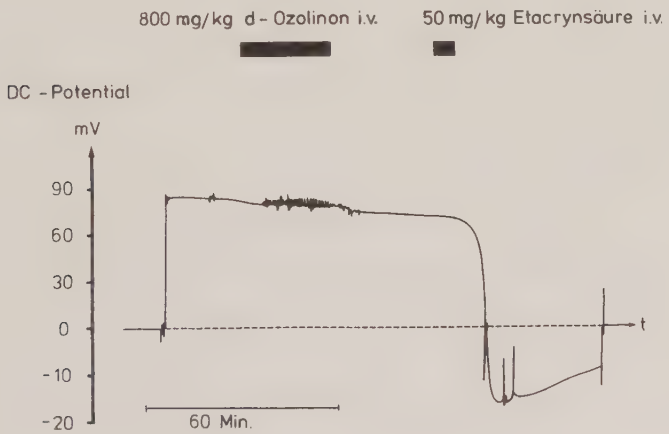


Abb. 7: DC-Potential in der dritten Windung unter d-Ozolinongabe i.v. (800 mg/kg) und anschließender Etacrynsäuregabe i.v. (50 mg/kg)

C. Kaliummessungen

An elf farbigen Meerschweinchen wurden Kaliumkonzentrationsmessungen durchgeführt. Zehn Minuten nach Erreichen des steady state wurden zwei Tieren jeweils 50 mg/kg Etacrynsäure i.v. appliziert. Bei beiden Tieren wurde der charakteristische DC-Potentialabfall und der nachfolgende Abfall der Kaliumkonzentration gefunden und registriert. Eine Originalmessung ist in Abb. 8 dargestellt.

Bei weiteren vier Tieren wurden ebenfalls im steady state verschiedene Dosen frischgelösten Ozolinon (Racemat) i.v. appliziert. Das Ausgangspotential und die K^+-Konzentration in der Endolymphe, die applizierte Dosis sowie der maximale Abfall des DC-Potentials sind in der Tabelle 2 aufgeführt. Das mittlere DC-Potential betrug bei diesen 4 Tieren 76,75 $\pm$ 8,2 mV. Die mittlere K^+-Konzentration in der Endolymphe wurde mit 186,75 $\pm$ 20,8 mval bestimmt. Innerhalb der Meßzeit von bis zu zwei Stunden ergab sich bei keinem der vier Tiere eine signifikante Veränderung der K^+-Konzentration in der Endolymphe. Die Veränderungen des DC-Potentials waren bei allen vier Tieren charakteristisch und entsprachen den gefundenen Ergebnissen der ersten Versuchsreihe (s. Abb. 9).

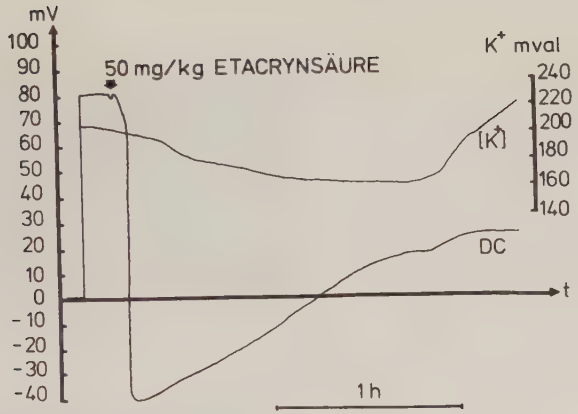


Abb. 8: K^+-Konzentration und DC-Potential in der dritten Windung unter Etacrynsäuregabe (50 mg/kg)

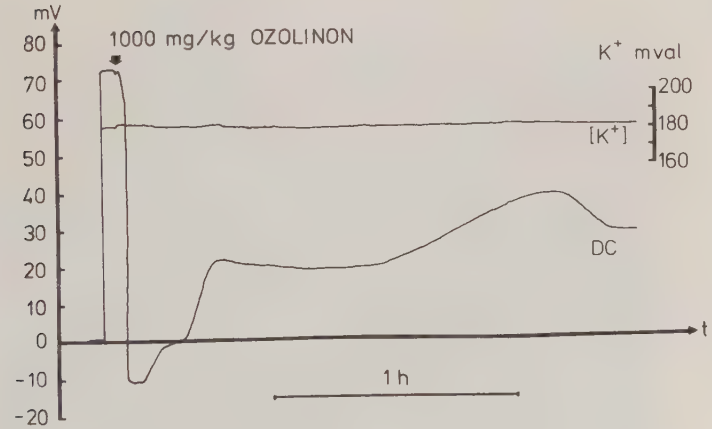


Abb. 9: K^+-Konzentration und DC-Potential in der dritten Windung unter Ozolinongabe (Racemat) (1000 mg/kg)

D. Morphologische Untersuchungen

Bei der Auswertung der licht-, rasterelektronen- und elektronenmikroskopischen Präparate ergaben sich typische Veränderungen, wie wir sie auch bei den übrigen Schleifendiuretika finden. Ab 1000 mg/kg Ozolinon (Racemat) fanden sich ein interstitielles Ödem der Stria vaskularis und ein Anschwellen vor allem der Marginalzellen dieser Struktur. Diese Veränderungen zeigten sich prinzipiell schon bei einer Dosis von 1000 mg/kg Ozolinon (Racemat). Deutlicher ausgeprägt waren sie allerdings erst bei 1500 mg/kg mit einer Einwirkdauer von einer Stunde.

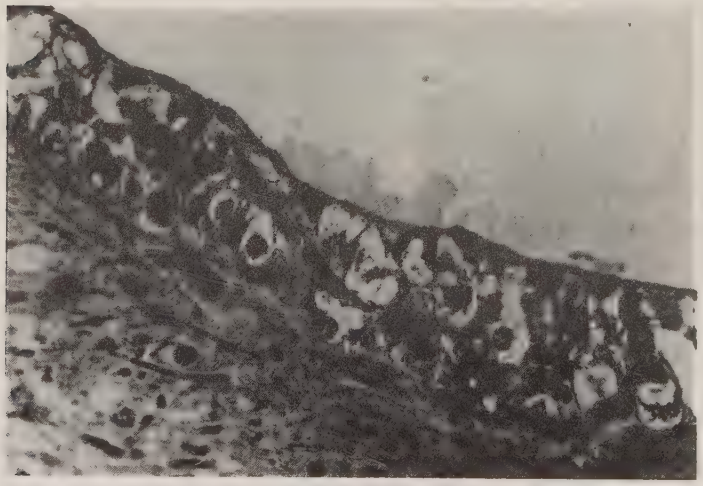
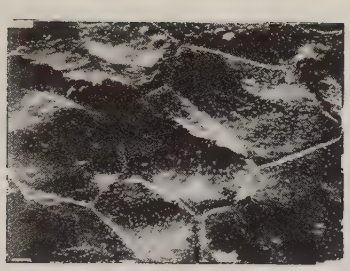


Abb. 10: Lichtmikroskopische Aufnahme der Stria vaskularis nach Ozolinon (Racemat) 1500 mg/kg.



KONTROLLE
3500 × VERGRÖSSE-
RUNG

1000 mg / kg KG

OZOLINON

1500 mg / kg KG

Abb. 11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Marginalzellen der Stria vaskularis nach verschiedenen Dosen von Ozolinon (Racemat)

Abb. 12: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Stria vaskularis nach Ozolinon (Racemat) 1500 mg/kg eine Stunde nach i.v. Applikation. Deutlicher Verlust der Mikrovilli an der marginalen Seite, Verbreiterung der Interzellulärspalten und starke Vakuolenbildung innerhalb der Zellen (Vergrößerung 4800fach)

IV. Diskussion

A Diskussion der Methode

Als Versuchstiere dienten farbige Meerschweinchen. Sie besitzen im Verhältnis zu ihrem Körpergewicht ein relativ großes Innenohr, was für die verwendeten Mikroelektroden gut zugänglich ist. Diese Vorteile sind der Grund dafür, daß diese Tiere neben Ratten als häufigste Versuchstiere für Forschungen am Innenohr Verwendung finden. Dadurch ist ein Vergleich mit Ergebnissen anderer Autoren gut möglich.

Die Bestimmung des DC-Potentials erfolgte mit Glaselektroden, die mit einer 2,7 mol KCl-Lösung gefüllt waren. Bei dieser Methode tritt an den Flüssigkeitsgrenzflächen ein Diffusionspotential auf, das die Messung verfälscht. Dieses Diffusionspotential wurde stets kleiner als 5 mV bestimmt. Die Elektrodenspitze wurde auf einen Durchmesser von ca. 0,5 um gezogen. Bei diesen Größenverhältnissen ist der Elektrodenwiderstand sehr groß und kann die Potentialmessung erheblich beeinträchtigen, da ein großer Teil der Spannung schon am Elektrodenwiderstand abfällt und sich so der Messung entzieht. Dieser Fehler konnte vernachlässigt werden, da der Eingangswiderstand des Potentiometers um ein Vielfaches größer war, als die Summe aller in der Schaltung sich addierender Widerstände, die zwischen 5 und 30 Megaohm lag. Der Eingangswiderstand des Potentiometers betrug 10^8 Megaohm. Eine weitere unumgängliche Fehlerquelle er-

gibt sich aus der mechanischen Manipulation an der Cochlea, ohne die das Einbringen der Elektrode in den Endolymphraum nicht möglich wäre. Dies gilt insbesondere für den ventralen Zugang, bei dem die knöcherne Cochleawand präpariert werden muß. Beim dorsalen Zugang durch das Mittelohr kann man zwar die Präparation der knöchernen Wand umgehen, indem man das fenestra rotundum punktiert, muß dann aber respiratorische Beeinträchtigungen in Kauf nehmen, die durch die Bauchlage bedingt sind. Die hier aufgeführten Ergebnisse wurden ausschließlich in Rückenlage mit ventralem Zugang gewonnen. Daraus erklärt sich der relativ niedrige Mittelwert des DC-Potentials von 75,3 mV. In der Literatur werden Werte von über 80 mV in der ersten Windung angegeben, so z.B. von Bosher (Bosher 1978) 81,3 mV bei einer Verteilung von 75,5 bis 91,3 mV. Die Beeinflußung der Potentialmessung durch Temperaturschwankungen konnte durch Lagerung auf einer thermostatierten OP-Platte mit kontinuierlicher Rectaltemperaturmessung ausgeschaltet werden.

Bei der K^+-Bestimmung bestehen im Prinzip die gleichen Fehlerquellen wie bei der DC-Potentialmessung. Hinzu kommen noch: die wesentlich höhere Temperaturempfindlichkeit, die nie vollständige Selektivität des Ionenaustauschers und die relativ große Fehlerbreite bei der Umrechnung der gewonnenen K^+-Potentialwerte in die absoluten K^+-Konzentrationen, da zwischen der Spannung und der Konzentration eine logarithmische Beziehung besteht.

Die dennoch gute Aussagekraft dieser Methode zeigen die gewonnenen Ergebnisse unter Anwendung von Etacrynsäure. Sie decken sich gut mit den in der Literatur angegebenen Etacrynsäureeffekten (Bosher 1978, Bosher I 1979, Bosher et. al 1973, Sellick, P.M. 1974).

B. Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse der DC-Potentialmessungen in der dritten Schneckenwindung ergaben eine reproduzierbare und charakteristische Beeinflußung durch Ozolinon. Die K^+-Konzentration ließ sich nicht meßbar beeinflussen. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den anderen Schleifendiuretika Furosemid und Etacrynsäure. Ozolinon ist der erste Metabolit des von Satzinger synthetisierten Etozolin (Satzinger 1978). Es ist ein neues Schleifendiuretikum, was sich jedoch in der chemischen Struktur von den anderen Schleifendiuretika Furosemid (Lasix^R) und Etacrynsäure (Hydromedien^R) unterscheidet. Die einzige chemische Gemeinsamkeit dieser drei Substanzen ist die Carboxylgruppe. Sie ist verantwortlich für die renale Eliminitation dieser Substanzen im proximalen Tubulus über das "Anionentransportsystem". So gelangen sie in den aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife. Es kann heute als gesichert angesehen werden, daß dort ihre diuretische Wirkung primär auf eine Hemmung der Chloridionenrückresorption beruht (Burg, M. et al. 1973). Daraus ergibt sich eine Natriurese, ohne allerdings den renalen O_2Verbrauch zu verringern (Fülgraff et al. 1969 b). Schleifendiuretika können bis maximal 40% der glomerulären Filtrationsrate (GFR) kontrollieren und sind augenblicklich die wirksamsten Diuretika der Klinik. Der maximale diuretische Effekt für Ozolinon (Racemat) wird in der Literatur mit 50 mg/kg am Hund angegeben. Die diuretische ED_{50} beträgt

beim Meerschweinchen 20 mg/kg i.v.. Neben diesem direkt diuretischen Effekt steigern die Schleifendiuretika die renale Durchblutung (Williamson 1975, Greven u. Heidenreich 1978). Williamson et al. (1976) konnten zeigen, daß bei Gabe von Etacrynsäure die renale Prostaglandin - E - Synthese signifikant ansteigt und damit der Durchblutungsanstieg erklärt wird. Mit Indomethacin läßt sich dieser Effekt selektiv blockieren, ohne die diuretische Wirkung zu verändern. Weitere renale Effekte der Schleifendiuretika sind: die Steigerung der Glukoneogenese (Fülgraff et al. 1972), der Einfluß auf die Bildung von cyclischen Nucleotiden (cAMP und cGMP) (Osswald et al. 1977) und auf die Adenylatcyclase (Paloheimo 1977). Neben diesen Gemeinsamkeiten aller Schleifendiuretika gibt es erste Untersuchungen von H. Knauf und G. Sachs, bei denen Ozolinon differente Effekte auf den Elektrolyttransport hatte gegenüber Furosemid und Etacrynsäure. Sie zeigten, daß Ozolinon bei luminaler Applikation in den Speicheldrüsengang der Ratte die Na^+-Resorption und die K^+-Sekretion drastisch senkte. Die beiden anderen Schleifendiuretika zeigten keinen Einfluß auf den Elektrolyttransport. Das transductale Potential wird von keinem der drei Diuretika beeinflußt (Knauf, H. et al. 1980). Ebenso zeigten Greven et al., daß Ozolinon im Gegensatz zu den anderen Schleifendiuretika keinen Einfluß auf die endproximale Cl-Konzentration hat (Greven, J. et al. 1978). Über die Wirkung am Innenohr liegen für Furosemid und

Etacrynsäure viele Veröffentlichungen vor, nachdem ihre ototoxischen Eigenschaften kurz nach ihrer Einführung in die Klinik zutage traten (Sellick et al. 1974, Forge 1976). Bisher hauptsächlich beschriebene Effekte sind die drastische Senkung des DC-Potentials (ähnlich bei Anoxie) bis auf Werte um - 40 mV, die Veränderung in der Elektrolytzusammensetzung der Endolymphe (Na^+-Konzentration steigt, K^+-Konzentration sinkt) und die charakteristischen morphologischen Veränderungen der Innenohrendothelien.

Für Ozolinon lag bisher nur eine Veröffentlichung vor, die sich mit der Innenohrwirkung beschäftigt. W. Jung und F. Schön vergleichen in dieser Arbeit die Effekte verschiedener Diuretika auf die Cochlea-Microphonpotentiale (CMP) am Meerschweinchen. Dabei wird vor allem eine Aussage über die Ototoxizität anhand der CMP-Beeinflußung gemacht. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß bei Etacrynsäure und Furosemid "meist mit keinem Einfluß auf die CMP" zu rechnen ist bei Dosen bis 1,5 - 2,5 mg/kg. Für Ozolinon geben sie eine Dosis von 10 - 15 mg/kg an. Das ergibt annähernd eine Zehnerpotenz Unterschied der Massendosis.

Vergleicht man die Äquivalentdosen, so ergibt sich ein ähnliches Bild:

Etacrynsäure	Furosemid	Ozolinon
(MG^+ = 303,2)	(MG = 330,8)	(MG = 256,3)

$^+$MG = Molgewicht

Die akute irreversible Schädigung wird mit dieser Methode wie folgt angegeben:

Etacrynsäure	Furosemid	Ozolinon
10 - 15 mg/kg	10 - 15 mg/kg	200 mg/kg

Auch hier ergeben sich für Etacrynsäure und Furosemid etwa gleiche Dosisbereiche, wogegen Ozolinon um eine Zehnerpotenz höher dosiert werden muß, um wahrscheinlich irreversible Schäden akut zu setzen.

Diese Ergebnisse lassen sich recht gut mit unseren DC-Potentialmessungen in Einklang bringen. Nimmt man den DC-Potentialabfall als Maß für die Toxizität, so kann man schon nach Applikation von 50 mg/kg Ozolinon i.v. eine zwar geringe aber signifikante Schädigung annehmen, die aber im Dosisbereich zwischen 100 und 500 mg/kg erst voll zur Ausprägung kommt. Über die Reversibilität dieser Störungen können wir keine Aussage machen, da der Beobachtungszeitraum von zwei Stunden zu kurz war. Ebenso lassen sich auch unsere morphologischen Untersuchungen einordnen. Akute morphologische Veränderungen sahen wir erst bei Applikation von über 1000 mg/kg i.v. von Ozolinon (Racemat) deutlich ausgebildet. Es ergibt sich also in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von W. Jung und F. Schön auch für Ozolinon eine Ototoxizität, die allerdings bei wesentlich höheren Konzentrationen erst eintritt, als man nach diuretisch wirksamen Dosen erwarten

würde. Für Etacrynsäure und Furosemid liegen die maximalen diuretischen Dosen nahe den maximalen ototoxischen Dosen.

Die therapeutische Breite für Ozolinon (Racemat) zwischen diuretischer und Innenohrwirkung ergibt beim Meerschweinchen:

$$\frac{ED_{50}\ \text{diuretisch}}{ED_{50}\ \text{ototoxisch}} = \frac{20\ mg/kg}{500\ mg/kg} = \frac{1}{25}$$

Als Wirkungsmechanismus der Schleifendiuretika am Innenohr wird die Beeinflußung des Ionentransportes angenommen. Diese Annahme wird u.a. unterstützt durch die Korrelation zwischen DC-Potentialabfall und nachfolgender Elektrolytverschiebung, wie sie für Etacrynsäure und Furosemid beschrieben ist. Bisher schien dies auch für alle Schleifendiuretika Gültigkeit zu haben. Für Ozolinon ließ sich diese Korrelation jedoch nicht nachweisen. Einschränkend muß erwähnt werden, daß bei unseren Versuchen Ozolinon nur i.v. appliziert wurde und keine Perfusion der Perilymphräume vorgenommen wurde. Ebenfalls kann nicht ausgeschlossen werden, daß bei noch höherer Dosierung eine K^+-Verschiebung eintritt. Der Unterschied dieser Substanz zu Etacrynsäure und Furosemid ist dennoch auffällig. Die Dosisbereiche für renale, DC-Potential senkende und K^+-Transport beeinflussende Effekte liegen für Ozolinon weit auseinander. Welche Bedeutung hierbei der Tatsache beizumessen ist, daß Ozolinon auch das einzige optisch aktive Schleifendiuretikum ist, müßte in weiteren Ex-

perimenten geklärt werden. Die Trennung des Racemates in eine links- und rechtsdrehende Form ist kürzlich gelungen. Für die Niere liegen erste Ergebnisse vor (M. Herrmann et al., J. Greven et al. 1980). M. Herrmann et al. und J. Greven et al. berichten unabhängig voneinander, daß nur das linksdrehende Isomer diuretisch wirkt. Die Durchblutung der Niere wird dagegen von beiden Isomeren angehoben. Dabei muß wohl davon ausgegangen werden, daß dem optisch aktiven Zentrum eine bedeutende Rolle innerhalb des Tubulus zukommt. Für i.v. applizierte Etacrynsäure besteht ein kompetitiver Hemmechanismus für den diuretischen Effekt. Perfusionsversuche an der Niere haben gezeigt, daß die rechtsdrehende Form des Ozolinons den Etacrynsäureeffekt nicht aufheben kann, wenn man die Etacrynsäure intraluminal appliziert. Damit liegt kein Hemmechanismus am Wirkort, sondern am Ort der Sekretion im proximalen Tubulus vor. Ein ähnlicher Hemmechanismus ergibt sich für das Innenohr nicht, da i.v. applizierte Etacrynsäure auch nach d-Ozolinon den bekannten DC-Potential-senkenden Effekt zeigt (s. Abb. 7).

V. Zusammenfassung

Ozolinon ist ein neues Schleifendiuretikum. Es hat keine chemischen Gemeinsamkeiten mit Furosemid oder Etacrynsäure außer der Carboxylgruppe. Es ist das einzige Schleifendiuretikum mit einem optisch aktiven Zentrum. Das linksdrehende Isomer wirkt im Gegensatz zum rechtsdrehenden an der Niere diuretisch.

Im Innenohr konnte eine Senkung des DC-Potentials durch die l-Form erreicht werden. Eine Veränderung der Kaliumaktivität in der Endolymphe ergab sich jedoch nicht. Damit kann gezeigt werden, daß eine DC-Potential-Senkung nicht notwendigerweise mit einer Verminderung der Kaliumaktivität bei Schleifendiuretika gekoppelt sein muß. Morphologische Veränderungen, wie sie für die anderen Schleifendiuretika bekannt sind, ließen sich auch durch Ozolinon erzeugen. Alle Effekte am Innenohr sind allerdings erst bei wesentlich höheren Ozolinonkonzentrationen zu beobachten, als man aus der bekannten diuretisch wirksamen Konzentration erwarten würde. Dies bedeutet eine größere therapeutische Breite und damit eine sicherere klinische Anwendung.

Mit Ozolinon ist zum ersten Mal ein Schleifendiuretikum gefunden, dessen optisch aktives Zentrum nur in der linksdrehenden Form am Innenohr wirksam wird. D-Ozolinon hemmt bei i.v. Applikation die diuretische Wirkung von Etacrynsäure und Furosemid. Die evt. zu erwar-

tende Hemmung des DC-Potential-senkenden Effektes dieser Schleifendiuretika durch d-Ozolinon bei i.v. Applikation ließ sich jedoch nicht finden. Furosemid und Etacrynsäure bleiben also bei i.v. Applikation in ihrer Wirkung am Innenohr durch d-Ozolinon unbeeinflußt.

Welche Bedeutung dem optisch aktiven Kohlenstoffatom für den Wirkmechanismus zukommt, bleibt offen, vor allem auch deshalb, da Furosemid und Etacrynsäure ein solches Atom nicht besitzen.

VI. Literaturverzeichnis

W. Arnold, C. Morgenstern, L. Thorn, I. Schinko

Morphologische und funktionelle Veränderungen am Innenohr nach Vergiftung mit Etacrynsäure und Atoxyl

Arch. Oto-Rhino-Laryng. 218, 179-190 (1978)

K.H. Beyer, J. E. Baer, J.K. Michaelson, H.F. Russo

Renotropic characteristics of ethacrynic acid: a phenoxy acetic saluretic-diuretic agent.

J. Pharmacol. exr. Ther. 147 (1965) 1

S.K. Bosher

THE NATURE OF THE NEGATIVE ENDOCOCHLEAR POTENTIALS PRODUCED BY ANOXIA AND ETHACRYNIC ACID IN THE RAT AND GUINEA-PIG

J. Physiol. (1979) 293, pp. 329-345

S.K. Bosher

THE NATURE OF THE OTOTOXIC ACTIONS OF ETHACRYNIC ACID

UPON THE MAMMALIAN ENDOLYMPH SYSTEM

Acta Otolaryngol 89: 407-418, 1980

S.K. Bosher

THE NATURE OF THE OTOTOXIC ACTIONS OF ETHACRYNIC ACID

UPON THE MAMMALIAN ENDOLYMPH SYSTEM

Acta Otolaryngol 90: 40-54, 1980

S.K. Bosher, C. Smith, R.L. Warren

THE EFFECTS OF ETHACRYNIC ACID UPON THE COCHLEAR ENDOLAMPH AND STRIA VASCULARIS

Acta Otolaryng 75: 184-191, 1973

M. Burg, L. Stoner, J. Cardinal, N. Green

Furosemide effect on isolated perfused tubules

Am. J. Physiol. 225, 119 (1973)

A. Forge

Observations on the Stria Vascularis of the Guinea Pig Cochlea and the Changes resulting from the Administration of the Diuretic Furosemide

Clin. Otolaryngol., 1, 211 (1976)

E. Frömter, M. Simon, B. Gebler

A DOUBLE-CHANNEL ION SELECTIVE MICROELECTRODE WITH THE POSSIBILITY OF FLUID EJECTION FOR LOCALIZATION OF THE ELECTRODE TIP IN THE TISSUE

Max-Planck-Institut für Biophysik, Kennedyallee 70, 6000 Frankfurt (Main) 70, Germany

G. Fülgraff, A. Bieg, K. Wolf

Der renale Sauerstoffverbrauch nach Strophanthin und 6-Aminonicotinamid

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 266, 43 (1970)

G. Fülgraff, H. Nünemann, D. Sudhoff

Effects of the diuretics furosemide, ethacrynic acid and chlorothiazide on gluconeogenesis from various substrates in rat kidney cortex slices.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 273, 86 (1972)

G. Fülgraff, K. Wolf, J. Adelmann, A.-K. Krieger

Zum Wirkungsmechanismus von Diuretica. Die Wirkung von Furosemid auf den O_2-Verbrauch der Niere

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path. 263, 485 (1969b)

Gladigau, V., K.-O. Vollmer

Beschreibung des pharmakokinetischen Verhaltens von Etozolin und dessen Hauptmetaboliken

Arzneim.-Forsch./ Drug. Res. 27 (II), Nr. 9a (1977)

J. Greven, W. Defrain, B. Förster, K. Meywald

On the mode of action of diuretics. Renal effects of optical isomers of ozolinone.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacolog. 307, R 48 (1979)

J. Greven, H. Klein, O. Heidenreich

Effects of ozolinone, a diuretic active metabolite of etozoline, on renal function. II. Localisation of tubular site of diuretic action by micropuncture in the rat.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch., 304, 289 (1978)

A. v. Hodenberg, K.O. Vollmer, W. Klemisch, B. Liedtke

Metabolismus von Etozolin bei Ratte, Hund und Mensch

Arzneim.-Forsch. 27, 1776 (1977)

W. Jung, F. Schön

Diuretikawirkungen an der Cochlea

Diuretika, edition medizin, 249 (1980)

H. Knauf, R. Lübcke, W. Kreutz, G. Sachs

Interrelationships of ion transport in rat submaxillary duct epithelium

Am. J. Physiol. (subm. f. publ.)

Teruzo Konishi, Philip Hamrick

ION TRANSPORT IN THE COCHLEA OF GUINEA PIG
II. Chloride Transport

Acta Otolaryngol 86: 176-184, 1978

J. Kusakari, I. Ise, T.H. Comegys, I. Thalmann, R. Thalmann

EFFECT OF ETHACRYNIC ACID,FUROSEMIDE AND OUABAIN UPON THE ENDOLYMPHATIC POTENTIAL AND UPON HIGH ENERGY PHOSPHATES OF THE STRIA VASCULARIS

The Laryngoscope 88:1978

J. Kusakari, J. Kambayashi, I. Ise, K. Kawamoto

REDUCTION OF THE ENDOCOCHLEAR POTENTIAL BY THE NEW "LOOP" DIURETIC,BUMETANIDE

Acta Otolaryngol 86: 336-341, 1978

P. Müller, F. Schaub

Experimentelle und klinische Untersuchungen mit Ethacrinsäure, einem chemisch neuartigen Diureticum.

Klin. Wschr. 42 (1964) 958

M. Oehme, W. Simon

MICROELECTRODE FOR POTASSIUM IONS BASED ON A NEUTRAL CARRIER AND COMPARISON OF ITS CHARACTERISTICS WITH A CATION EXCHANGER SENSOR

Analytica Chimica Acta, 86 (1976) 21-25

H. Osswald, A. Hawlina, U. Clasen, O. Heidenreich

Tissue levels of cyclic nucleotides in the rat kidney after administration of furosemide.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 299, 273 (1977)

Paloheimo, S., R. Thalmann

Influence of loop diuretics upon Na-K-ATPase and adenylate cyclase of the stria vascularis

Arch. Otolaryng 217, 347 (1977)

G. Satzinger, M. Herrmann, K.-O. Vollmer, A. Merzweiler, H. Gomahr, O. Heidenreich, J. Greven

Etozoline: A novel diuretic. In: Cragoe, E.J. (Editor): "Diuretic Agents", American Chemical Society, Washington, D. C., S. 155 (1978)

P.M. Sellick, B.M. Johnstone

Differential effects of oubain and ethacrynic acid on the labyrinthine potentials

Pflügers Arch. 352, 339 (1974)

P.M. Sellick, B.M. Johnstone

PRODUCTION AND ROLE OF INNER EAR FLUID

Progress in Neurobiology 1975 Vol. 5. Part. 4 pp 337-362 Pergamon Press

H.E. Williamson, W. A. Bourland, G.R. Marchand

Inhibition of furosemide induced increase in renal blood flow by indomethacin (38497).

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 148, 164 (1975)

T. Yamashita, W. Arnold, K.-H. Vosteen

Does Reissner's Membrane Influence the Ionic Composition of the Endolymph and the Endocochlear Potential?

Arch. Oto-Rhino-Laryng. 209, 245 (1975)

Mein Dank gilt meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Claus Morgenstern, für die freundliche Überlassung des Themas und seine Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Auch danke ich Frau Rosemarie Seeck und Fräulein Martina Janßen, die mich bei der Durchführung der Versuche unterstützten.

Meiner Schwester Beate danke ich für die mühevolle Schreibarbeit.

VII. Lebenslauf

Name:	Franz Leßmann
Geburtstag:	30. 6. 1954
Geburtsort:	Rheydt (heute Mönchengladbach)
Religion:	römisch/katholisch
Eltern:	Franz Leßmann; Maria geb. Boveleth
Beruf d. Eltern:	Gärtner, Hausfrau
Ehefrau:	Maria Leßmann, geb. Mohr Medizinstudentin im Praktischen Jahr im Lukaskrankenhaus Neuss
Schulbesuch:	1960 - 1968 9 Volksschuljahre 1971 - 1973 Fachoberschule für Technik Klasse 10 und 12 1973 - 1975 Gymnasium Mönchengladbach Klasse 12 und 13 Abitur 1975
Berufsausbildung:	1968 - 1971 Gärtnerlehre im Betrieb Johann Heinen, Mönchengladbach
Studium:	1975 bis jetzt Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf, seit Herbst 1980 im Praktischen Jahr im Lukaskrankenhaus Neuss